

Triclades obscuricoles des Pyrénées
V. Études morphologique et cytotonomique
de *Dendrocoelopsis bessoni* n. sp.

par Nicolc GOURBAULT, Mario BENAZZI et Marie-Noëlle HELLOUET *

Résumé. — Description d'une espèce nouvelle de *Dendrocoelopsis* peuplant, en altitude, les eaux souterraines des Pyrénées. La caractéristique essentielle de cette forme réside dans la présence d'une succession d'expansions latérales lobées au niveau de la partie dorsale du canal de la bourse entourée alors d'une musculature circulaire très épaisse. La garniture chromosomique diploïde correspond au nombre de 20 éléments, métacentriques pour la plupart, et les auxocytes possèdent 10 bivalents.

Abstract. — A new species of *Dendrocoelopsis*, inhabiting subterranean waters high in the Pyrenees, is described. The distinctive characteristic of this species is the occurrence of lateral lobular expansions along the dorsal part of the bursal canal which here is surrounded by very strong circular muscles. The diploid chromosome complement consists of 20 elements, which are mostly metacentric, and the auxocytes possess 10 bivalents.

INTRODUCTION

Plus de soixante années de prospections biospéléologiques ont permis l'identification d'une dizaine de nouvelles espèces hypogées de Planaires au sein du peuplement des eaux souterraines des Pyrénées françaises (cf. GOURBAULT, 1972 et 1973).

Le genre *Dendrocoelopsis* Kenk, 1930, est le mieux représenté. Il compte en effet quatre espèces s'échelonnant le long de la chaîne pyrénéenne d'est en ouest : *D. vandeli* (de Beauchamp, 1931), *D. chattoni* (de Beauchamp, 1949), *D. beauchampi* (Gourbault, 1969) et *D. brementi* (de Beauchamp, 1919) qui ont été décrites comme représentantes de l'ancien genre *Amyadenium* de Beauchamp. Notre nouvelle espèce *D. bessoni*¹ se trouve située entre les deux dernières, d'un point de vue tant géographique que taxonomique.

Tous les spécimens étudiés proviennent de cavités voisines creusées dans le Cirque de Liet, au sud-est du col d'Iscey et au nord-est du Pic de Sesques, en vallée d'Ossau, commune d'Accous, Pyrénées-Atlantiques. Ces grottes ont donné lieu à une étude topo-

* N. GOURBAULT et M.-N. HELLOUET, *Laboratoire Souterrain du CNRS, 09410 Moulis, et Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France.*

M. BENAZZI, *Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Pisa, Italia.*

1. Espèce amicalement dédiée à son découvreur, Jean-Pierre BESSON, Inspecteur au Parc national des Pyrénées occidentales à qui nous devons également les données concernant les biotopes.

graphique détaillée (BESSON et DOUAT, 1977). La localité-type est le gouffre Las Tasques de Liet (alt. 1 980 m) ; dans la salle en amont proche de l'entrée, les Planaires se rencontrent dans un gour peu profond tapissé d'argile et de sable dolomitique, alimenté par un ruisseau provenant d'une diaclase ainsi que par de petites arrivées d'eau de percolation tombant de la voûte.

Deux autres cavités doivent renfermer *D. bessoni*, il s'agit du gouffre Tonya André (alt. 2 024 m) et de la grotte de Charracou (alt. 1 550 m) ; toutefois les animaux observés n'ayant pas atteint un complet développement de l'appareil copulateur, nous ne saurions l'affirmer de façon certaine.

Quatre des sept individus fixés qui nous ont été remis en août 1973 ont permis l'étude taxonomique de l'espèce confirmée par la suite par l'observation de deux autres séries de coupes (fixation Carnoy, coloration bleu alcian-hémalum-phloxine). La caryologie a été rendue possible par l'obtention, en septembre 1974, d'une vingtaine d'individus vivants. Ceux-ci, en majorité asexués, ont dû être maintenus en élevage au laboratoire pour leur permettre d'atteindre le stade de maturité sexuelle requis pour l'analyse de la gamétogenèse. Deux cocons sphériques de 1,1 mm de diamètre et de couleur marron clair ont été déposés le 9-XII-1974 et 3-III-1975. Le premier a éclos le 1-VIII-1975, le second le 24-IX-1975, chaque ponte libérant quatre jeunes.

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE

MATÉRIEL-TYPE déposé au Muséum national d'Histoire naturelle : Holotype : un exemplaire en section sagittale sur sept lames (AJ 521-AJ 527). — Paratypes : une partie postérieure en section transversale sur trois lames (AJ 501-AJ 503) et quatre individus en sections sagittales.

Caractères externes

Dendrocoelopsis bessoni est dépigmentée et anophtalmic.

La taille des plus grands animaux atteint en extension 10 mm au maximum sur le vivant. Ceux obtenus fixés mesurent 4 à 6 mm de long et 0,8 à 1,2 mm de large. La morphologie de la tête rappelle celle des autres *Dendrocoelopsis* observées en élevage : *D. chattoni*, *beauchampi* et *americana* (Hyman, 1939). L'organe adhésif est visible entre les oreillettes arrondies, élargies latéralement au bord frontal tronqué, précédant un rétrécissement en forme de cou qui délimite l'extrémité antérieure. Le pharynx s'insère au milieu du corps et occupe le cinquième de la longueur totale. Les cæcums digestifs sont au nombre de dix à douze sur la branche impaire et de seize à dix-huit sur les deux branches postérieures (fig. 1 et 2). Les ovaires occupent la position habituelle entre les deuxième et troisième cæcums. Les testicules sont nombreux, visibles en arrière des ovaires et jusqu'à l'extrémité postérieure du corps. L'orifice génital s'ouvre au 4/5^e postérieur, l'appareil copulateur occupant le septième de la longueur totale.

Morphologie interne

L'épiderme, de type classique et plus épais sur la face ventrale, comporte généralement de nombreux rhabdites, abondamment distribués sur toute la surface de l'animal.

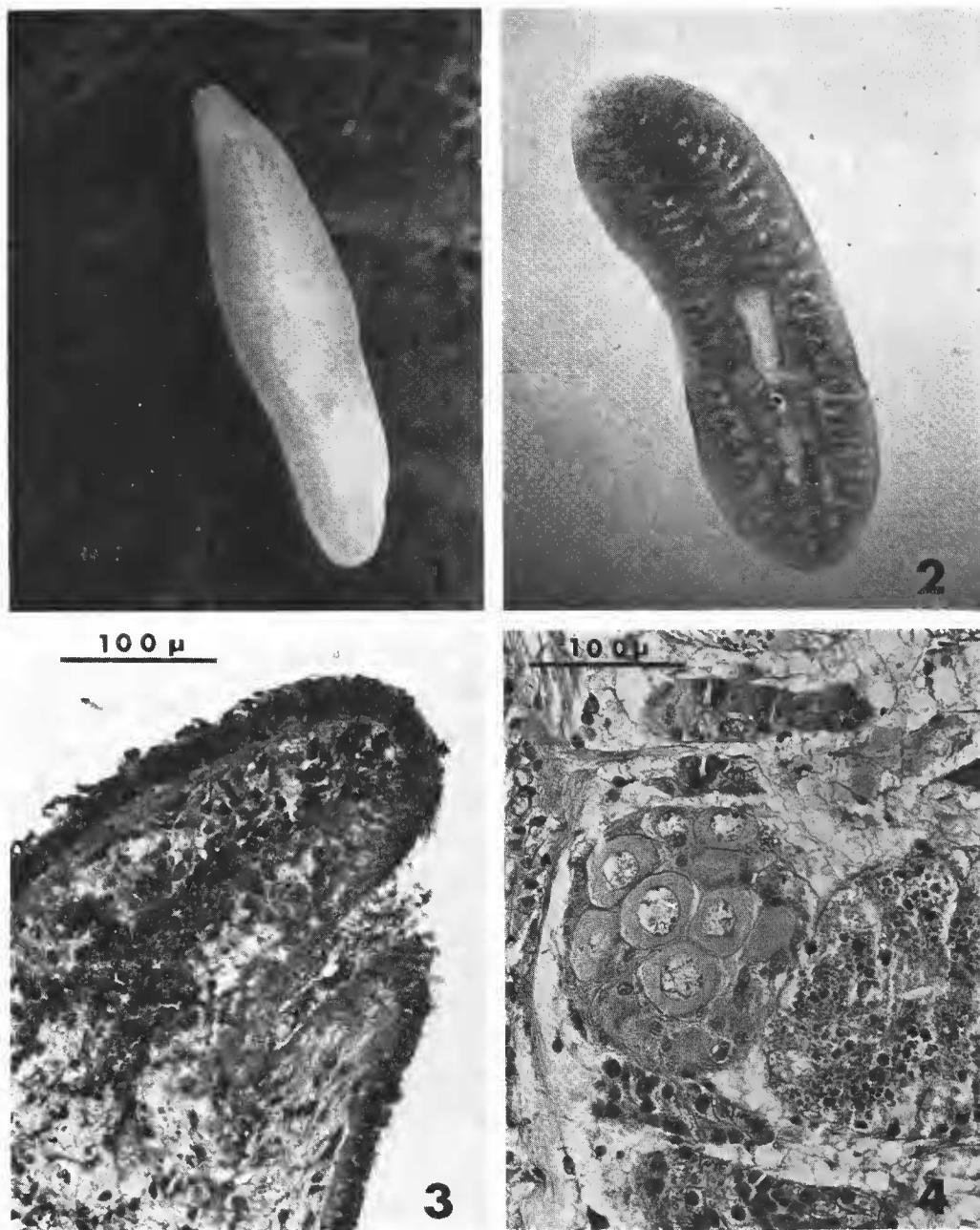


FIG. 1-4. — *Dendrocoelopsis bessoni*, 1, exemplaire vivant, $\times 10$; 2, spécimen fixé, *in toto*; 3, partie antérieure, organe adhésif en coupe; 4, ovaire.

L'organe adhésif consiste en une fossette déprimée en crypte étroite où débouchent quelques glandes éosinophiles essentiellement dorsales (fig. 3) ; l'épithélium y est dépourvu de rhabdites et la musculature est peu développée.

Le pharynx possède les caractéristiques de la famille des *Dendrocoelidae* ; la musculature externe occupe le sixième de l'épaisseur totale avec, faisant suite à la basale de l'épithélium, une couche longitudinale puis une ou deux couches circulaires. La musculature interne, deux fois plus large, montre l'alternance de fibres sur six à huit rangées.

Les ovaires renferment un faible nombre d'ovocytes, le plus souvent dix à quinze (fig. 4) ; les glandes vitellogènes, en revanche, peuvent être très développées occupant de larges espaces entre les testicules et les cæcums digestifs. Les testicules essentiellement dorsaux, surtout chez les jeunes individus, sont bien développés et peuvent parfois s'étendre sur toute la largeur du parenchyme.

L'appareil copulateur (fig. 5 et 6) est dépourvu d'organe musculo-glandulaire, ce qui justifie l'attribution au genre *Dendrocoelopsis*. Le pénis, de forme ovoïde, est d'assez grande

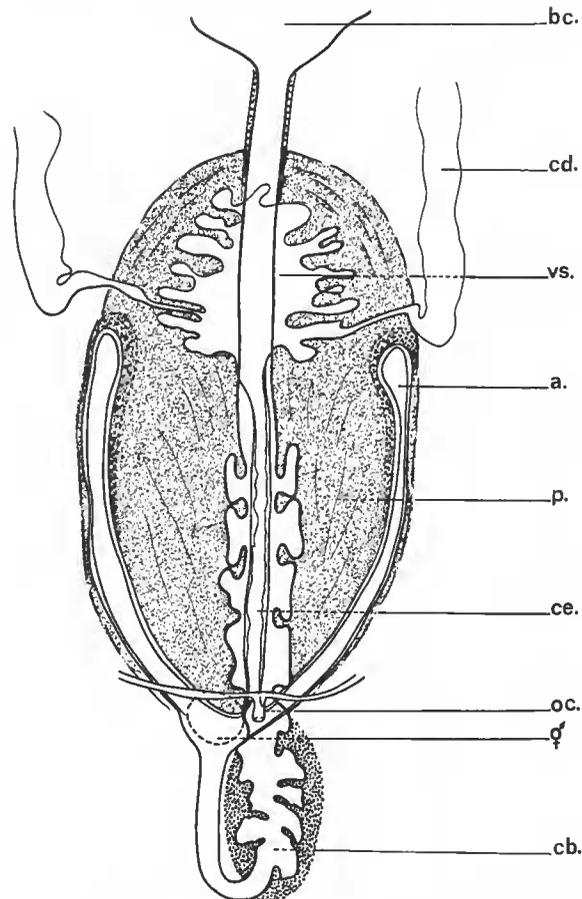


FIG. 5. — Reconstitution de l'appareil copulateur en vue frontale.

taille. Bulbe et papille sont faciles à différencier en raison de leur structure histologique. Le bulbe, légèrement déprimé, montre un plexus lâche de fibres musculaires entrecroisées ; quelques fibres longitudinales pénètrent dans la papille où, essentiellement dans la partie supérieure de l'organe, elles recoupent des fibres circulaires, et une épaisse musculature circulaire périphérique est visible au niveau du cul-de-sac de l'atrium. À une vésicule séminale (v.s.) vaste à épithélium papilleux sécréteur et à cellules dont les noyaux sont « *eingesenkt* » (fig. 7), fait suite le canal éjaculateur (e.e.) à lumière large. Les canaux déférents (e.d.), entourés d'une épaisse musculature circulaire, débouchent ventralement et assez bas dans la vésicule. Ils se dirigent perpendiculairement à l'axe longitudinal du pénis dont ils traversent le bulbe avant de cheminer normalement le long de la face ventrale de l'ani-

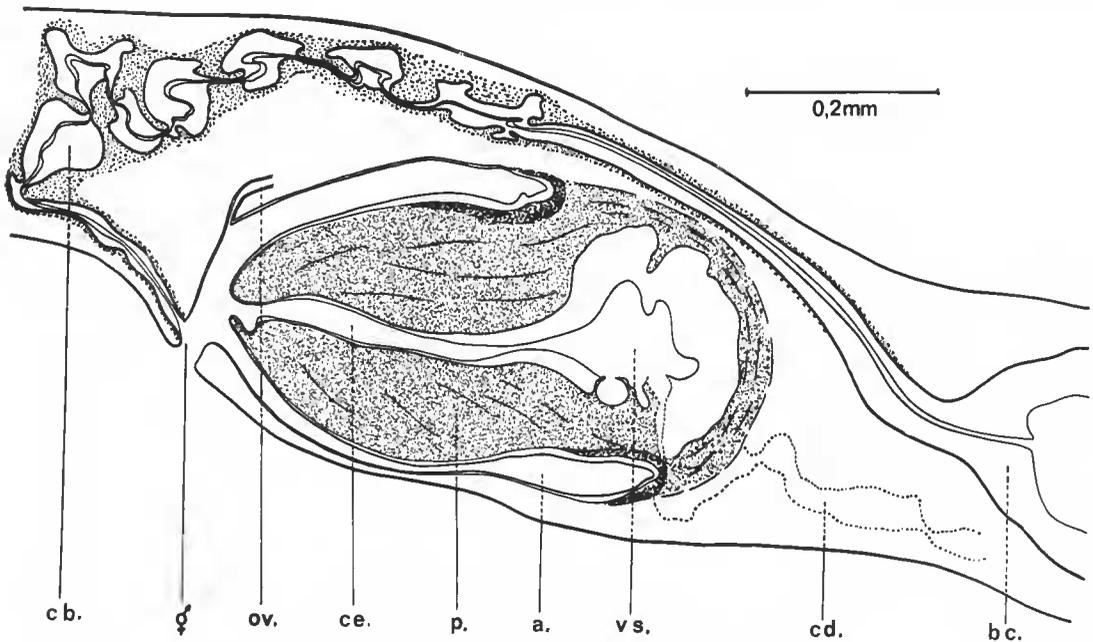


FIG. 6. — Appareil copulateur en vue sagittale.

mal. La papille (p.), qui peut apparaître à l'état invaginé chez certains spécimens, est peu musculuse et généralement libre dans l'atrium sur les 3/4 de la longueur totale de l'organe. Son parenchyme présente quelques noyaux périphériques pour la plupart ou regroupés dans la partie distale de la papille ; l'épithélium est bas. L'atrium est asymétrique car nettement plus long sur la face ventrale ; la musculature consiste en une couche de fibres circulaires entourée de fibres longitudinales, l'épithélium est très bas. La bourse copulatrice (b.e.), resserrée entre la gaine du pharynx et le pénis, occupe toute la largeur du corps ; son épithélium papilleux est très élevé par endroits et sa cavité renferme des sécrétions muqueuses. Le canal de la bourse (e.b.) prend tout de suite après son aboutissement dans celle-ci une position dorsale. Parfaitement médian jusqu'au niveau de l'atrium mâle (fig. 8), il présente un épithélium élevé réduisant sa lumière, entouré de quelques couches de fibres

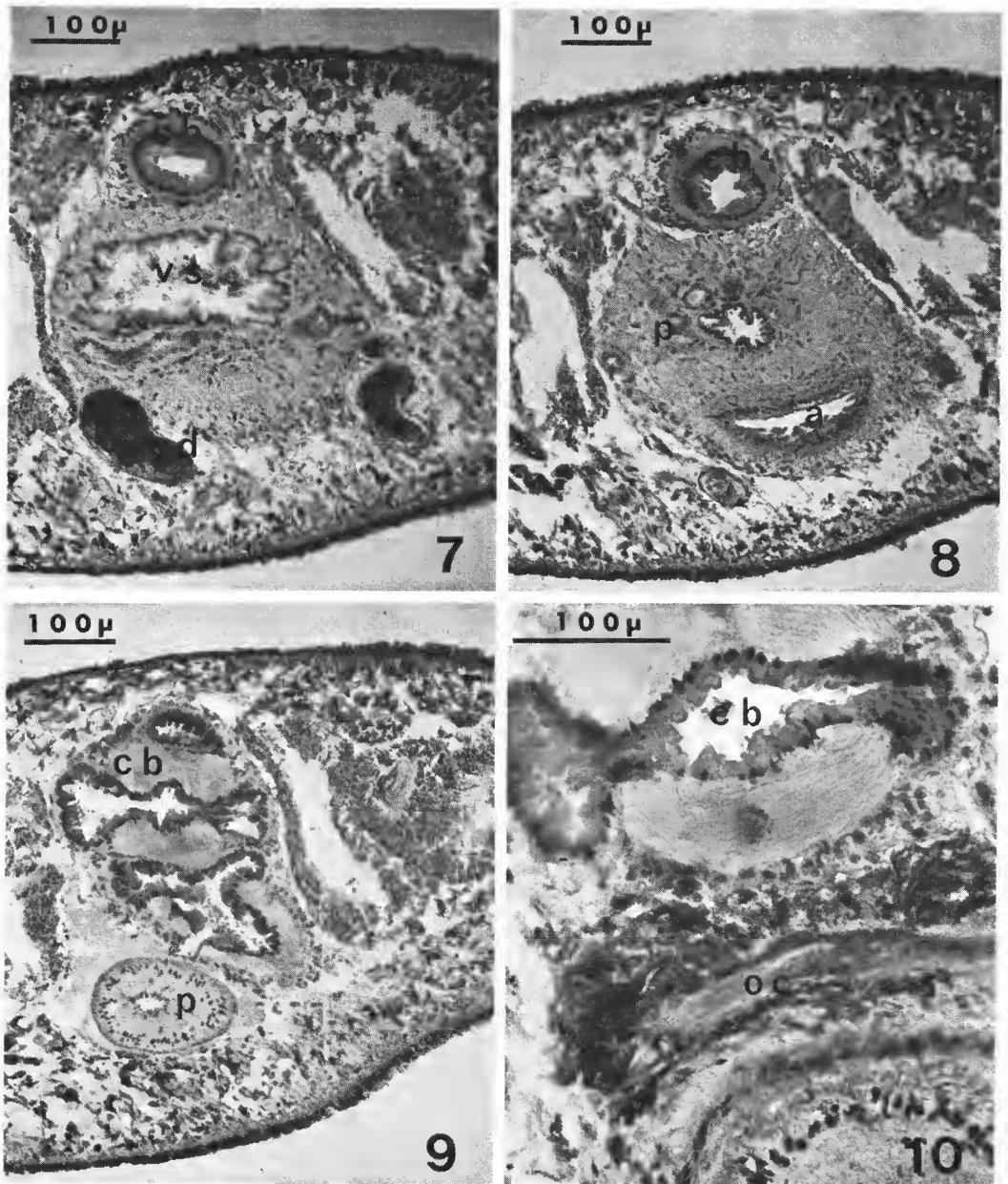


FIG. 7-10. — Appareil copulateur en coupes transversales : 7, vésicule séminale et canaux déferents ; 8, bulbe pénien, canal éjaculateur ; 9, expansions du canal de la bourse très développées et extrémité de la papille pénienne ; 10, oviducte commun.

musculaires. Une mince couche de fibres longitudinales est visible au-dedans des couches circulaires, comme c'est le cas chez toutes les autres espèces du sous-genre *Amyadenium* (de Beauchamp, 1931). Cette musculature circulaire devient ensuite très épaisse et le canal lui-même présente une succession d'expansions latérales lobées très caractéristiques (fig. 9). La partie du canal qui remonte vers l'orifice génital est plus ou moins rectiligne et de faible diamètre dans cette région ascendante de l'anse. Les oviductes, réunis en un très court canal commun (o.c.), se jettent dans le bas de l'atrium du côté dorsal, entouré d'un manchon de glandes coquillières bien développées (fig. 10).

ÉTUDE CARYOLOGIQUE

Nos résultats découlent à la fois de l'observation des mitoses somatiques des blastèmes régénératifs et de l'analyse des éléments germinaux.

La garniture chromosomique somatique

Dans les écrasements des blastèmes, les plaques métaphasiques s'obtiennent en grand nombre et sont le plus souvent très nettes, ce qui permet d'affirmer que le nombre diploïde de cette espèce est égal à 20.

La recherche des homologues (fig. 11) est basée sur les valeurs de la longueur relative et de l'indice centromérique de chacun des éléments. Ces données concernant le génome haploïde sont consignées sur le tableau I et représentées par l'idiogramme de la figure 12 qui exprime, pour dix métaphases étudiées, les moyennes calculées et leurs écart-types respectifs.

TABLEAU I. — Longueur relative et indice centromérique des dix paires de chromosomes de *Dendrocoelopsis bessoni*. Moyenne et écart-type calculés pour dix métaphases somatiques.

N° chromosome	Longueur relative	Indice centromérique
1	15,52 ± 0,43	47,42 ± 1,25
2	13,36 ± 0,64	38,06 ± 3,52
3	11,91 ± 0,53	32,55 ± 1,63
4	10,79 ± 0,38	36,77 ± 3,85
5	10,04 ± 0,37	32,46 ± 1,72
6	8,67 ± 0,51	45,26 ± 4,57
7	8,21 ± 0,25	42,93 ± 3,36
8	7,73 ± 0,26	44,18 ± 3,30
9	7,13 ± 0,24	45,91 ± 2,18
10	6,35 ± 0,30	47,58 ± 1,57

La taille des différents chromosomes varie approximativement du simple au double, du premier au dernier couple ; la longueur des éléments intermédiaires varie de façon très graduelle ne permettant pas de les regrouper. Le plus grand couple, nettement métacentrique, est suivi de quatre éléments plus hétérobrachiaux, tout particulièrement les troisièmes et cinquièmes paires submétacentriques, dont l'indice centromérique a une valeur

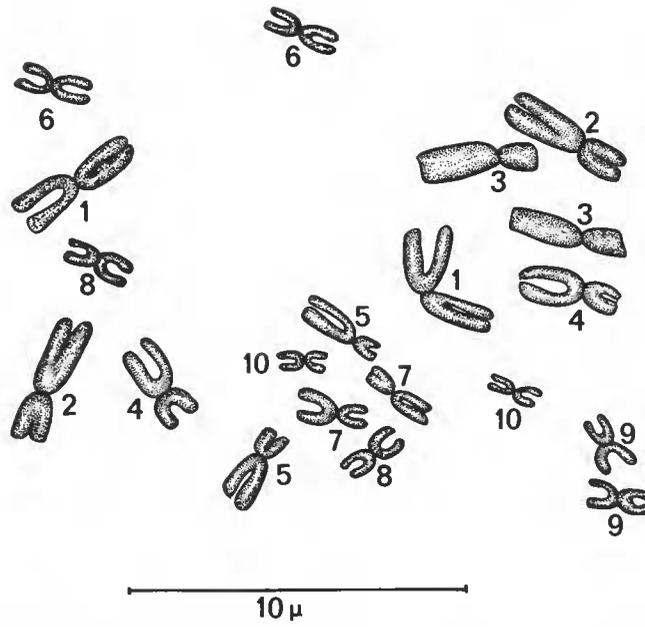


FIG. 11. — Mitose somatique : plaque métaphasique à $2n = 20$.

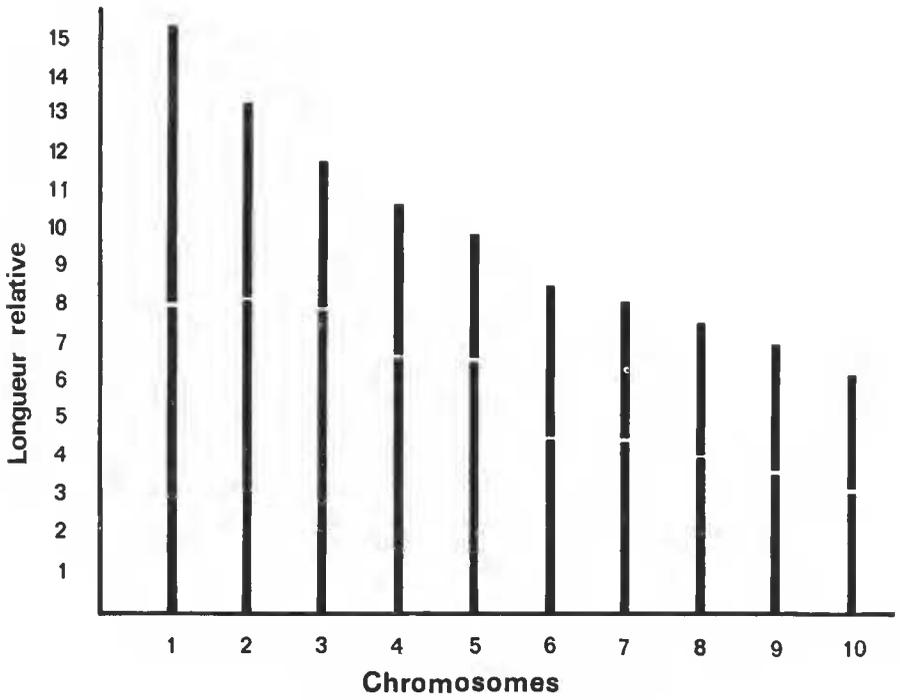


FIG. 12. — Idiogramme de *D. bessoni*.

inférieure à 37 (nomenclature de LEVAN *et al.*, 1964) sans atteindre toutefois la classe des subtélocentriques. Les cinq derniers couples sont tous métacentriques.

Les lignées germinales

La gamétogenèse apparaît parfaitement normale dans les deux lignées ; les bivalents sont toujours au nombre de dix dans tous les ovocytes et les spermatocytes observés.

a — Lignée mâle

Bien que les pachytènes soient les stades les plus fréquents, certains spermatocytes I ont été obtenus en diacinèse ou prométaphase. Quelques bivalents présentent une complète terminalisation des chiasmas et sont en forme d'anneau, ce qui n'est pas le cas des plus grands chez lesquels le nombre des chiasmas est plus élevé (fig. 13).

b — Lignée femelle

Deux ovocytes seulement ont permis une étude précise des bivalents en diacinèse ; la plupart des cellules étaient au stade prophasique et l'interprétation de quelques diplotènes s'est avérée incertaine. Jusqu'à sept chiasmas s'observent pour le plus grand bivalent et deux pour le plus petit ; leur nombre par cellule peut être évalué à 35 environ (fig. 14).

DISCUSSION

Sur la base des données tant anatomiques que caryologiques, l'individualité de cette nouvelle espèce apparaît indéniable.

De par la constitution de son pharynx et en raison de l'absence d'organe musculoglandulaire, cet animal appartient au genre *Dendrocoelopsis* tel qu'il a été défini par KENK. La présence d'une couche de fibres longitudinales en dedans des couches circulaires au niveau du canal de la bourse place plus précisément cette espèce dans le sous-genre *Amyadenium* dont les cinq représentants sont tous hypogés et pyrénéens à une exception près (*D. garmieri*). Tous ces *Amyadenium* sont dépigmentés et anophtalmes, sauf *D. chattoni* qui est plurioculée et de taille nettement supérieure à celle de ses congénères.

La position des testicules dans le genre *Dendrocoelopsis* n'est pas constante. Cependant chez les *Amyadenium* la position dorsale est habituelle, en excluant encore *D. chattoni*. Le pénis ovoïde et peu musculéux de *D. bessoni* rappelle celui de *D. vandeli* dont le canal éjaculateur est cependant plus large. Le canal de la bourse possède l'anse qui caractérise la plupart des *Amyadenium* et c'est à son niveau que se situe le caractère essentiel permettant de différencier cette espèce, caractère qui consiste en la présence de renflements dans la partie moyenne descendante du canal. Ces renflements n'atteignent un tel degré de développement chez aucun autre Tricladé, semble-t-il.

Mais on peut signaler chez deux *Dendrocoelum* (*Dendrocoelides*) roumains : *racovitzai* de Beauchamp, et *sphaerophyllus* de Beauchamp, l'existence soit de dilatations irrégulières, soit de très larges lobes au niveau du canal, sans rapport toutefois avec le phénomène qui s'observe ici et dont tout au plus une ébauche pourrait être envisagée chez *Dendrocoelopsis*

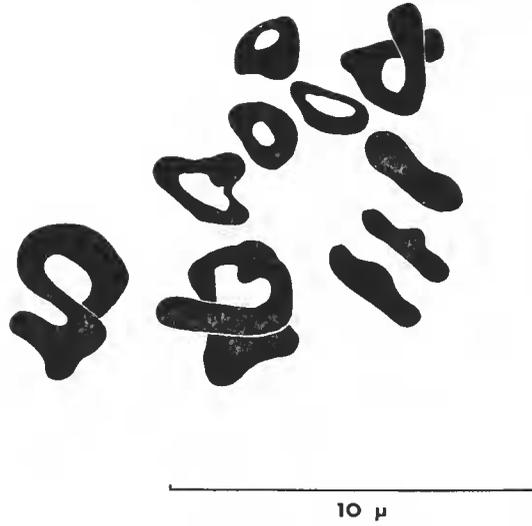


FIG. 13. — Spermatocyte I en diacinèse.

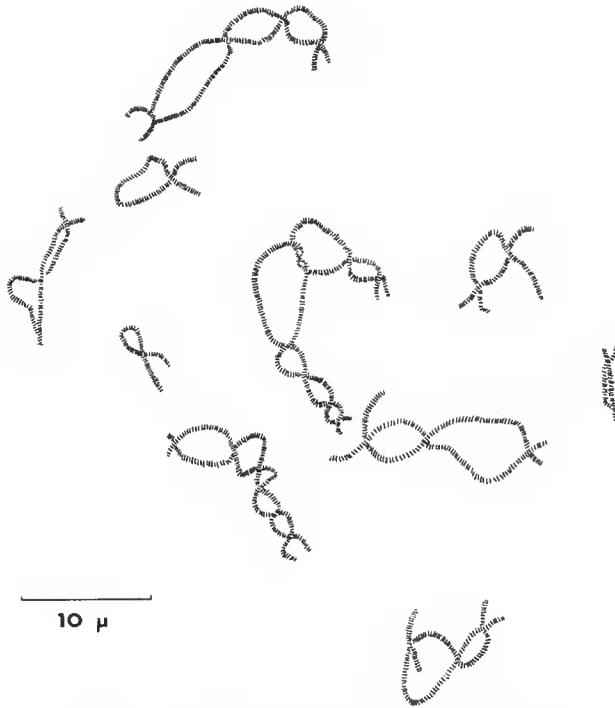


FIG. 14. — Méiose : ovogenèse au stade diplotène.

vaginata Hyman, 1935. Chez quelques formes du lac Baikal, seule la partie terminale du canal de la bourse peut être modifiée.

En ce qui concerne la caryologie, le nombre chromosomique de 20 éléments n'apparaît pas exceptionnel au sein des *Dendrocoelopsis*. En effet, ce nombre a été signalé pour l'espèce japonaise *D. lactea* Ichikawa et Okugawa par DAHM (1963) et pour la troglophile américaine *D. americana* par nous-même (GOURBAULT, 1975). Mais les deux espèces hypogées d'*Amyadenium* étudiées (*beauchampi*, et *chattoni*) ont montré une garniture diploïde plus élevée, soit 30 chromosomes (BENZAZZI et GOURBAULT, 1974 ; GOURBAULT et BENZAZZI, 1974). Au contraire, chez les espèces épigées du genre, le nombre diploïde correspond à 10 comme c'est le cas pour *D. spinosipennis* Kenk, 1925, d'après DAHM (1963) et *D. piriformis* Kenk, 1953, d'après HOLMQUIST (1967), à 16 chez *D. ezensis* Ichikawa et Okugawa, 1958, toujours selon DAHM (1963).

Au niveau de la morphologie du caryotype, l'allure générale caractéristique des *Dendrocoelopsis* se retrouve chez *bessoni*. En revanche le nombre de 20 éléments différencie nettement cette espèce des autres *Amyadenium* pyrénéens que nous avons pu analyser. En effet, un tel nombre de chromosomes n'avait pas été observé jusqu'à présent dans les espèces typiquement souterraines pour lesquelles un nombre élevé d'éléments est généralement reconnu (GOURBAULT, 1976). Le nombre chromosomique moins élevé de cette nouvelle espèce pourrait permettre de penser à une évolution récente de cette forme dans le domaine souterrain à partir d'une forme épigée. L'anophtalmie cependant ne semble pas devoir appuyer cette hypothèse.

Par ailleurs sa présence à une altitude de 2 000 m, à laquelle aucun autre Triclade hypogé n'a été signalé en Europe, doit être également prise en considération. En effet, la température régnante, toujours très basse, est un facteur important conditionnant le métabolisme et l'évolution adaptative de l'espèce.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEAUCHAMP, P. DE, 1919. — Diagnoses préliminaires de Triclades obscuricoles. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **44** : 243-251.
- 1931. — Nouvelles diagnoses de Triclades obscuricoles. 4^e. Essai d'une classification des Dendrocoelidae. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **55** : 155-163.
- 1949. — Turbellariés. 3^e série. Biospeologica. LXIX. *Archs. Zool. exp. gén.*, **86** : 50-65.
- BENZAZZI, M., et N. GOURBAULT, 1974. — Recherches caryologiques sur quelques Dendrocoelidae hypogés. *C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **278**, sér. D : 1051-1054.
- BESSON, J. P., et M. DOUAT, 1977. — Spéléologie dans la région du col d'Iseye-Accous (Pyr. Atl.). *Spelunca (sous presse)*.
- DAHM, A. G., 1963. — The karyotypes of some freshwater Triclads from Europe and Japan. *Ark. Zool.*, sér. 2, **16** : 41-67.
- GOURBAULT, N., 1969. — Triclades obscuricoles des Pyrénées. II. Une nouvelle espèce française du genre *Amyadenium* Beauchamp. *Annls Spéol.*, **24** : 105-110.
- 1972. — Recherches sur les Triclades paludicoles hypogés. *Mém. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, sér. A, Zool., **73** : 1-249.
- 1973. — Habitats des Planaires en milieu souterrain. *Bull. Écol.*, **4** : 225-238.
- 1975. — Karyology of the troglophile planarian *Dendrocoelopsis americana* (Hyman). *Annls Spéol.*, **30** : 125-127.

- 1976. — Recent karyological research on cave planarians from Europe. *Int. J. Speleol., suppl. (sous presse)*.
- GOURBAULT, N., et M. BENAZZI, 1974. — Étude caryologique du Triclade hypogé *Dendrocoelopsis chattoni* (de Beauchamp). *Annls Spéleol.*, **29** : 621-626.
- HOLMQUIST, C., 1967. — *Dendrocoelopsis piriformis* (Turbellaria Tricladida) and its parasites from Northern Alaska. *Arch. Hydrobiol.*, **62** : 453-466.
- HYMAN, L. H., 1935. — Studies on the morphology, taxonomy, and distribution of North American Triclad Turbellaria, VI, *Dendrocoelopsis vaginatus* n. sp. *Trans. Am. microsc. Soc.*, **54** : 338-345.
- 1939. — New species of Flatworms from North, Central and South America. *Proc. U. S. natn. Mus.*, **86** : 419-439.
- ICHIKAWA, A., et K. I. OKUGAWA, 1958. — Studies on the Probursalians (Freshwater Triclads) of Hokkaido. I. On two new species of the genus *Dendrocoelopsis* Kenk, *D. lacteus* and *D. ezen-sis*. *Bull. Kyoto Gakugei Univ.*, sér. B, **12** : 9-18.
- KENK, R., 1925. — Zur Anatomie von *Dendrocoelum spinosipennis* Kenk, (Turbellaria, Tricladida). *Zool. Anz.*, **63** : 131-146.
- 1930. — Beiträge zum System der Probursalier (Tricladida paludicola). I-III. *Zool. Anz.*, **89** : 145-162 et 289-302.
- 1953. — The fresh-water Triclads (Turbellaria) of Alaska. *Proc. U. S. natn. Mus.*, **103** (3322) : 163-186.
- LEVAN, A., K. FREGDA et A. A. SANDBERG, 1964. — Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas.*, **52** : 201-220.

Manuscrit déposé le 30 octobre 1975.

*Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3^e sér., sept.-oct. 1976, n° 406,
Zoologie 283 : 1095-1106.*

Achévé d'imprimer le 28 février 1977.